

GC/MS 同时测定尿中吗啡和可待因含量

吴 敏 王 丽¹ 张 勤 (浙江医科大学药理学系, 杭州 310031)

摘要 建立了 GC/MS 同时测定尿中吗啡和可待因含量的分析方法。线性范围为 20—1000 ng/ml ($r = 0.9997$)；方法回收率是：吗啡 $86.8 \pm 7.9\%$ ，可待因 $84.7 \pm 7.0\%$ 。天内测定 RSD $< 10\%$ ，天间测定 RSD $< 15\%$ 。该法已用于生物样品中吗啡和可待因的测定。

吗啡和可待因是阿片植物中天然存在的生物碱，长期以来一直被用作药物，同时也被滥用，它们主要对中枢神经系统产生作用。吗啡是强力麻醉镇痛药，容易成瘾。可待因也易成瘾，它还是一些止咳药和止痛药正常成份。另外吗啡的乙酰化物：海洛因，这一当代最为广泛滥用的毒品之一，在体

内迅速代谢吗啡。服用海洛因后的尿样中很难检测到海洛因，但通常含有高浓度的吗啡。可待因在体内也可代谢成吗啡。吗啡和可待因的测定方法有 GC、HPLC 等。本文建立了同时测定尿中吗啡和可待因的 GC/MS 方法，现报告如下：

1 浙江医科大学中心实验室

实 验

材料和仪器、吗啡、可待因、三氟乙酸酐(TFAA)购自 Sigma, 吗啡- d_3 和可待因- d_3 购自 Radian, Corporation 其它试剂和溶剂均为 AR 级和色谱纯。

Finigan MAT 4500 GC/MS, DB1-30m-0.25 μ 膜厚—0.25 mm $\cdot$ d, 熔融石英毛细管柱, GC 条件: 160 $^{\circ}$ C(0.5 min) $\xrightarrow{16^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280 $^{\circ}$ C (2 min); 正离子化学电离 (PCI) 反应条件: CH_4/NH_3 (0.6:0.3); 离子源温度 130 $^{\circ}$ C; 分离器温度 240 $^{\circ}$ C; 注射温度 200 $^{\circ}$ C; 选择性离子监测 (SIM) 的质荷比 (M/Z): 吗啡 478, 吗啡- d_3 481, 可待因 396, 可待因- d_3 399。

分析方法: 1 ml 尿样用冰 HAc 调节 pH 到 5, 加 1 ml NaAc 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 5.0) 含 5000 u β -葡萄糖苷酶, 37 $^{\circ}$ C 水浴反应 16 h, 加 200 ng 药物- d_3 作为内标, 调节 pH 至 9 并加 1 ml 磷酸盐缓冲液 (pH 9.0) 并用 NaCl 饱和。用 5 ml 混合溶剂 (甲苯: 己烷: 异戊醇 7:2:1) 提取 15 min, 离心, 分取有机层于 60 $^{\circ}$ C 挥干。分析前, 用 200 μ l CHCl_3 溶解残渣, 再加 100 μ l TFAA 于 70 $^{\circ}$ C 反应 30 min, 60 $^{\circ}$ C 挥干。进样前加 50 μ l CHCl_3 溶解。取 1 μ l GC/MS 分析。吗啡和可待因的保留时间分别为 4.3 min 和 4.8 min。

结果与讨论

线性范围: 取空白尿样 1 ml, 加入 0, 20, 50, 100, 250, 500, 750 和 1000 ng 药物及 200 ng 内标物, 按分析方法操作、以浓度 C (ng/ml) 对药物与内标峰面积比 (g), 求得其标准曲线的线性回归方程: 吗啡 $y = 2.913 \times 10^{-3}x + 0.01406$ ($r = 0.9997$), 可待因 $y = 3.255 \times 10^{-3}x - 4.468 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9997$)

回收率试验: 取 1.0 ml 空白尿样或去离子水, 加入 300 ng 药物, 按分析方法操作, 尿样于衍生化前加入内标, 比较尿样与水样的结果, 得方法的回收率为: 吗啡 $86.8 \pm 7.9\%$, 可待因 $84.7 \pm 7.0\%$ $n = 6$ 。

重现性试验: 取 1.0 ml 空白尿样加入一定量药物标准品、照分析方法操作, 用标准曲线计算药

物的含量, 结果列于表 1。

表 1 方法的重现性 ($\bar{x} \pm s$)

药 物	加入量 (ng)	测得量 (hs)	样 本 数
天 内	20	19.5 ± 1.2	
吗 啡	500	505.4 ± 29.7	10
可 待 因	20	19.3 ± 1.4	
	500	498.4 ± 39.4	
天 间	20	20.6 ± 2.6	
吗 啡	500	502.5 ± 19.6	6
可 待 因	20	19.3 ± 2.8	
	500	495.1 ± 48.4	

样品分析: 取 1.0 ml 可疑样品, 照分析方法操作, 分析结果列于表 2

表 2 生物样品中吗啡和可待因的浓度 (ng/ml)

样 品	吗 啡	可待因	样 品	吗 啡	可待因
1 尿	24.12	26.36	8	503.3	ND
2	63.10	<20	9	1140	1693
3	151.8	<20	10	9342	31.1
4	<20	769.6	11 血浆	68.7	866.0
5	299.7	123.3	12 尿	1080	31.32
6	281.4	120.7	血	25.7	<20
7	235.0	110.4	胃内容	226.7	11188
14 注射器	14.5mg	ND	13 所出匀浆	122.5	412.5
残留液	/ml				

*均为两次测定的平均值

作为相应药物 GC/MS 分析的内标物, 氘标药物与非氘标化合物比较有非常多的优点^[2]。吗啡和可待因两者溶解度, pka 值等有较大差别, 使用单一内标物来测定两种药物是不合适的。例如在不同 pH 条件下两者的提取效率不同, 而相应的氘标药物与母体药物具有相同的性质, 可克服上述缺点。

尿中吗啡和可待因大多是其葡萄糖苷, 但也有—小部分硫酸酯, 因此水解酶最好同时含有葡萄糖苷酶和硫酸酯酶活性。

吗啡和可待因的 TFAA 衍生物放置一段时间后可发生部分分解, 因此衍生化后需尽快进样或重新加热反应。

采用逐步稀释法测得本法的检出限 (LOD) 是: 吗啡 4.8 ns/ml, 可待因 3.6 ng/ml。

参考文献

- 1 Cone E J, Weich P, Paul B D, et al. Forensic drug testing for opiates J Anal Toxicol, 1991, 15(4): 161—6
- 2 Paul B D, Mell LD, Mitchell J M, et al. Simultaneous identification and quantitation of codeine and morphine in urine by gc-ms, J Anal Toxicol, 1985, 9(5): 222—6

收稿日期: 1995—03—25

Determination of Morphine and Codeine in Urine by GC/MS

Wu Min, Zhang Qin

(School of Pharmacy, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310031)

Abstract The analytical method has been developed to assay morphine and codeine in human urine by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. The linear range of the method was 20—1000 ng/ml and the mean recoveries are $86.8 \pm 7.9\%$ ($n=6$) for morphine, $84.7 \pm 7.0\%$ ($n=6$) for codeine. The relative standard deviation of intra and inter assay was less than 10% and 15% respectively. The method had been used to assay morphine and codeine in human urine and other biological samples.

Key words morphine, codeine, analytical method, urine

(on page 52)